

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002年1月24日 (24.01.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/05855 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 47/48, 47/36, 47/26, 47/10, 9/19, 31/4745, C07D 491/22 一製薬株式会社 製剤技術研究所 大阪製剤技術センター内 Osaka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/06020 (74) 代理人: 弁理士 小栗昌平、外(OGURI, Shuhei et al.) ; 〒107-6028 東京都港区赤坂一丁目12番32号 アーク森ビル28階 栄光特許事務所 Tokyo (JP).
- (22) 国際出願日: 2001年7月11日 (11.07.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): AE, AG, AI, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, FR, GE, GR, GU, HK, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (30) 優先権データ: 特願2000-213683 2000年7月13日 (13.07.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 第一製薬株式会社 (DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒103-0027 東京都中央区日本橋三丁目14番10号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 高橋雅行 (TAKAHASHI, Masayuki) [JP/JP], 竹内正人 (TAKEUCHI, Masahito) [JP/JP]; 〒134-0081 東京都江戸川区北葛西一丁目16番13号 第一製薬株式会社 東京研究開発センター内 Tokyo (JP), 杉江修一 (SUGIE, Shuichi) [JP/JP]; 〒569-0806 大阪府高槻市明田町4番38号 第
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING DDS COMPOUNDS

(54) 発明の名称: DDS化合物を含有する医薬組成物

(57) Abstract: Pharmaceutical compositions which contain compounds obtained by bonding a carboxy-bearing polysaccharide derivative to a camptothecin derivative either through a spacer or not therethrough and are improved in storage stability by the addition of a sugar or a sugar alcohol and, if necessary, a pH regulator.

(57) 要約:

本発明は、カルボキシル基を有する多糖誘導体とカンプトテシン誘導体がスベーターを介してまたは該スベーターを介さずに結合している化合物について、糖または糖アルコールさらに必要に応じてpH調整物質を加えた保存安定性を確保した医薬組成物を提供する。

WO 02/05855 A1

明細書

DDS化合物を含有する医薬組成物

技術分野

本発明は、カルボキシ基を有する多糖誘導体にペプチド鎖（スパーサー）を介してまたは該スパーサーを介さずにカンプトテシン誘導体を結合させたドラッグデリバリーシステム（DDS）化合物を含有する医薬組成物の凍結乾燥製剤に関するものである。

背景技術

抗腫瘍剤の多くは、全身投与された場合、全身の様々な細胞や組織に広く分布し、正常な細胞や組織に対しても細胞毒として作用するため、下痢、発熱、嘔吐、あるいは脱毛などの副作用をきわめて高率に発生させるという問題を有している。このような問題を解決するため、抗腫瘍剤を効率的かつ選択的に腫瘍部位に移行させる手段の開発が求められている。

このような手段の一つとして、多糖誘導体を薬物担体として用い、該多糖誘導体に対して抗腫瘍剤を結合させて抗腫瘍剤の血中における消失を遅延させるとともに、癌組織への指向性を高めるDDSの手法が提案されている（国際公開WO 094/19376号、国際公開WO 094/19376号、特公平7-84481号公報）。

多糖誘導体を薬物担体として用いたDDS化合物の中でも、カルボキシメチルデキストランをポリアルコール化した多糖誘導体を薬物担体として用い、ペプチド鎖を介して、カンプトテシン誘導体である（1S, 9S）-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[de]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13（9H, 15H）-ジオン（以下、本明細書中、化合物Aと表すこともある）を結合させたDDS化合物は、極めて優れた腫瘍選択性および抗腫瘍活性を有しており、現在、臨床試験の準備がなされている。

しかし、上記DDS化合物を凍結乾燥した製剤は、保存期間中に分子量の増加が起こり、それに伴う製剤の形状変化および再溶解性の悪化が生じるなど、保存安定性が極めて低いという問題があった。

本発明は、カルボキシル基を有する多糖誘導体にペプチド鎖（スパーサー）を介してまたは該スパーサーを介さずにカンプトテシン誘導体を結合させた化合物の保存安定性を確保した医薬組成物を提供するものである。

発明の開示

本発明者等は鋭意検討した結果、上記化合物に、糖または糖アルコールを加え、さらには必要に応じてpH調整物質を加えて凍結乾燥することにより、上記化合物の分子量増加を抑制できることを見出した。

すなわち、本発明は、カルボキシル基を有する多糖誘導体にペプチド鎖（スパーサー）を介してまたは該スパーサーを介さずにカンプトテシン誘導体を結合させた化合物および糖または糖アルコールを含有する医薬組成物に関する。

さらに詳しくは、カルボキシル基を有する多糖誘導体と（1S, 9S）-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[d,e]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13（9H, 15H）-ジオンが1個のアミノ酸からなるスパーサーもしくはペプチド結合した2～8個のアミノ酸からなるスパーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と（1S, 9S）-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[d,e]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13（9H, 15H）-ジオンが該スパーサーを介さずに結合している化合物およびマルトース、グルコース、ラクトース、トレハロース、サッカロース、マンニトール、イノシトール、ガラクトース、リボース、キシロース、マンノース、シュクロース、セルビオース、ラフィノースおよびマルトトリオースからなる群より選ばれる1種または2種以上の糖もしくは糖アルコールを含有する医薬組成物に関する

また、カルボキシル基を有する多糖誘導体と(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[d,e]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13(9H, 15H)-ジオンが1個のアミノ酸からなるスペーサーもしくはペプチド結合した2~8個のアミノ酸からなるスペーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[d,e]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13(9H, 15H)-ジオンが該スペーサーを介さずに結合している化合物と、マルトース、グルコース、ラクトース、トレハロース、サッカロース、マンニトール、イノシトール、ガラクトース、リボース、キシロース、マンノース、シュクロース、セルビオース、ラフィノースおよびマルトリオースからなる群より選ばれる1種または2種以上の糖もしくは糖アルコール、およびpH調整物質を含有する医薬組成物に関する。

さらに、カルボキシル基を有する多糖誘導体がカルボキシC₁₋₄アルキルデキストランポリアルコールである上記の医薬組成物に関する。

また、カルボキシル基を有する多糖誘導体がカルボキシメチルデキストランポリアルコールである上記の医薬組成物に関する。

さらに、カルボキシメチルデキストランポリアルコールの重量平均分子量が50,000~500,000の範囲である上記の医薬組成物に関する。

また、カルボキシメチルデキストランポリアルコールのカルボキシメチル化度が、0.2~0.5である上記の医薬組成物に関する。

さらに、スペーサーが(N末端)-Gly-Gly-Phe-Gly-(C末端)のアミノ酸配列で表されるアミノ酸である上記の医薬組成物に関する。

また、(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[d,e]ピラノ[

3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) - ジオンの導入量がカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) - 1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) - ジオンが1個のアミノ酸からなるスペーサーもしくはペプチド結合した2~8個のアミノ酸からなるスペーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) - 1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) - ジオンが該スペーサーを介さずに結合している化合物の重量に対し2~10重量%である上記の医薬組成物に関する。

さらに、糖もしくは糖アルコールがマルトースである上記の医薬組成物に関する。

また、マルトースの配合量がマルトース一水和物重量としてカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) - 1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) - ジオンが1個のアミノ酸からなるスペーサーもしくはペプチド結合した2~8個のアミノ酸からなるスペーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) - 1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) - ジオンが該スペーサーを介さずに結合している化合物重量の3倍以上である上記の医薬組成物に関する。

さらに、pH調整物質が塩酸または水酸化ナトリウムである上記の医薬組成物に関する。

また、pHが約5.5~9.0である上記の医薬組成物に関する。

さらに、pHが6.0～9.0である上記の医薬組成物に関する。

また、pHが6.3～7.0である上記の医薬組成物に関する。

さらに、カルボキシメチルデキストランポリアルコールと(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[de]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13(9H, 15H)-ジオンが(N末端)-Gly-Gly-Phe-Gly-(C末端)のアミノ酸配列で表されるアミノ酸からなるスペーサーを介して結合している化合物およびマルトースを含有する医薬組成物であって、該化合物のカルボキシメチルデキストランポリアルコールの分子量が50,000～500,000の範囲であり、カルボキシメチル化度が0.2～0.5であり、(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[de]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13(9H, 15H)-ジオンの導入量が該化合物の重量に対し2～10重量%であり、マルトースの配合量がマルトース一水和物重量として、該化合物重量の3倍以上であり、pHが6.0～9.0である医薬組成物に関する。

また、カルボキシメチルデキストランポリアルコールと(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[de]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13(9H, 15H)-ジオンが(N末端)-Gly-Gly-Phe-Gly-(C末端)で表されるアミノ酸からなるスペーサーを介して結合している化合物、マルトース、およびpH調整物質を含有する医薬組成物であって、該化合物のカルボキシメチルデキストランポリアルコールの分子量が50,000～500,000の範囲であり、カルボキシメチル化度が0.2～0.5であり、(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[de]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノ

リンー10, 13 (9H, 15H) -ジオンの導入量が該化合物の重量に対し2~10重量%であり、マルトースの配合量がマルトース一水和物重量として、該化合物重量の3倍以上であり、pH調整物質が塩酸または水酸化ナトリウムであり、pHが6.0~9.0である医薬組成物に関する。

さらに、上記の医薬組成物を含有する凍結乾燥製剤に関する。

本発明の医薬組成物は、カルボキシル基を有する多糖誘導体と化合物Aが1個のアミノ酸からなるスパーサーもしくはペプチド結合した2~8個のアミノ酸からなるスパーサーを介して結合しているか、または、カルボキシル基を有する多糖誘導体と化合物Aが該スパーサーを介さずに結合している化合物を含むことを特徴としている。多糖誘導体またはスパーサーと、化合物Aとの結合は、化合物A中の反応性官能基と多糖誘導体またはスパーサー中の反応性官能基との反応（例えば脱水縮合など）により形成される。また、化合物Aは、特開平5-59061号公報に記載の方法により合成することができるが、これに限定されない。

化合物Aは、多糖誘導体のカルボキシル基、スパーサーのN末端アミノ基もしくはC末端カルボキシル基、またはスパーサーを構成するアミノ酸に存在する反応性官能基等と結合している。好ましいスパーサーとしては、国際公開WO97/46260号等に記載されているアミノ酸スパーサー、ペプチドスパーサー等が挙げられる。特に、(N末端)-Gly-Gly-Phe-Gly-(C末端)のアミノ酸配列で表されるアミノ酸からなるスパーサーが好ましい。

化合物Aまたはスパーサーと、カルボキシル基を有する多糖誘導体のカルボキシル基との結合は、一般的には、化合物Aのアミノ基またはスパーサーのN末端アミノ基と、カルボキシル基を有する多糖誘導体のカルボキシル基とを酸アミド結合させることにより形成できる。酸アミド結合には、ペプチド鎖の合成に用いる通常の脱水縮合剤、例えば、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1, 2-ジヒドロキシキノリン (EEDQ) などを用いるとよい。化合物Aとスパーサーの結合は、例えば、化合物Aのアミノ基とスパーサーのカルボキシル基の脱水縮合をDCC等の通常の縮合剤を用いて行えばよい。

本発明の医薬組成物に含まれる化合物を構成するカルボキシル基を有する多糖誘導体としては、例えば、多糖類またはそれらを化学的もしくは生物学的に修飾した誘導体であって分子中にカルボキシル基を有するものであればいかなるものを用いてもよい。例えば、ヒアルロン酸、ヘクチン酸、アルギン酸、コンドロイチン、ヘパリンなどの多糖類のほか、ブルラン、デキストラン、マンナン、キチン、イヌリン、レバン、キシラン、アラバン、マンノグルカン、キトサンなどの多糖の一部または全部の水酸基に対してカルボキシ C_{1-4} アルキル化したものや、水酸基に多塩基酸の一のカルボキシル基をエステル結合させたものなどを好適に用いることができる。また、上記の多糖類をポリアルコール化した後に、カルボキシル基を有する官能基を導入したものを用いてもよい。

これらの多糖誘導体のうち、カルボキシ C_{1-4} アルキルデキストランポリアルコールを用いることが好ましい。カルボキシ C_{1-4} アルキルデキストランポリアルコールのポリアルコール化度は特に限定されないが、カルボキシ C_{1-4} アルキルデキストランポリアルコールを構成するデキストランポリアルコールが、実質的に完全にポリアルコール化可能な条件下において、デキストランを処理して得られたデキストランポリアルコールであることが好ましい。例えば、デキストランに大過剰の過ヨウ素酸ナトリウムと大過剰の水素化ホウ素ナトリウムとを順次作用させるとよい。

原料として用いるデキストランの種類は特に限定されず、デキストランの分子量も特に限定されないが、デキストランT500（ファルマシア社製）等の分子量が500、000程度のものが好ましい。カルボキシ C_{1-4} アルキル基を構成する C_{1-4} アルキルとしては、直鎖または分枝鎖の C_{1-4} アルキル、具体的にはメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基などを用いることができるが、好ましくは、メチル基を用いることができる。カルボキシアルキル化の条件は特に限定されないが、国際公開WO97/46261号に記載の方法等が適用できる。

デキストランポリアルコールの水酸基に対するカルボキシアルキル化度の程度は特に限定されないが、例えば、構成糖残基あたり、0.01～2.0の範囲、

好ましくは、0.1～1.0、より好ましくは、0.2～0.5の範囲である。
カルボキシアルキル化度は、キャピラリー電気泳動法等単位分子量当たりの電荷を測定できる方法により測定することができる。

また、カルボキシC₁₋₄アルキルデキストランポリアルコールの重量平均分子量は、ゲル濾過法で、プルランを標準として測定した場合に、5,000～1,000,000程度、好ましくは50,000～500,000程度である。標準とするプルランは、例えばShodex社より購入することができる。重量平均分子量は、GPC-RI (Gel permeation chromatograph refractive index) 法 (Analytical Biochem., 147, (1985) pp387-395)、GPC-LALLS (Gel permeation chromatograph low-angle laser light scattering) 法 (J. Chromatography, 506, (1990) pp409-416)、粘度測定法等により測定することができる。

本発明の医薬組成物に含まれる化合物において、カルボキシル基を有する多糖誘導体に導入する化合物Aの量は、薬効および毒性などの観点から適宜選択すべきであるが、該化合物の重量に対し0.1～30重量%、好ましくは、1～15重量%、さらに好ましくは2～10重量%程度の範囲を選択することができる。カルボキシル基を有する多糖誘導体に導入された化合物Aの量は、例えば、吸光度分析などにより容易に決定することができる。

本発明の医薬組成物には糖または糖アルコールを含む。糖または糖アルコールとしては、マルトース、グルコース、ラクトース、トレハロース、サッカロース、マンニトール、イノシトール、ガラクトース、リボース、キシロース、マンノース、シュクロース、セルビオース、ラフィノースおよびマルトトリオース等を挙げることができる。これらは、1種または2種以上を組み合わせ用いることができる。このうち、マルトースを単独で用いるのが好ましい。また、マルトースの配合量は、特に限定されないが、本発明の医薬組成物に含まれる化合物1重量部に対して、マルトース一水和物として3重量部以上含まれるのが好ましく、

3. 3重量部以上含まれるのが特に好ましい。マルトースの配合量の上限は特に限定されないが、マルトースの飽和溶解度以下の濃度となる範囲であることがより好ましい。

糖または糖アルコールを配合することにより、本発明の医薬組成物の保存安定性が向上する。糖または糖アルコールを配合せず、本発明の医薬組成物に含まれる化合物単独の凍結乾燥製剤を一定期間保存し、GPC-R.I法、GPC-LA.L.I.S法等により分子量測定を行ったところ、経時的に重量平均分子量の増加が生じた。また、重量平均分子量増加に伴い、凍結乾燥製剤の収縮および再溶解性の著しい低下が生じた。この重量平均分子量増加およびそれに伴う製剤の性質変化は、カルボキシル基を有する多糖誘導体のみで同様な保存を行った場合には観察されなかったことから、カルボキシル基を有する多糖誘導体に直接またはスパーサーを介して結合した化合物Aの作用により引き起こされと考えられた。

J. G. shiah等は、水溶性高分子に結合した疎水性分子同士の相互作用により凝集や会合が起こりうることを示唆している (Drug Delivery, 5 (1998) pp119-126)。

化合物A同士の疎水性相互作用等により、分子の凝集や会合が起こり、分子量増加が起こることが推測される。糖または糖アルコールを配合した場合、これらが化合物A間に介在することにより、化合物A同士の疎水性相互作用等を阻害するものと予想される。また、化合物A間に介在する物質は、化合物Aと相互作用しない物質であることが望ましい。例えば、親水性の化合物である糖または糖アルコールは、化合物Aと相互作用し難いと考えられ、本発明の医薬組成物の保存安定性確保のためにこれらを配合することが望ましい。

また、本発明の医薬組成物はpH 6.0～9.0に保たれることが保存安定性の観点から好ましい。pH 5.3で保存した場合、本発明の医薬組成物に含まれる化合物の分子量変化および分散度の上昇が観察された。特に、分散度の上昇が顕著であり、分散度が上昇することは、化合物の分子量のばらつきが大きくなることを示す。

一方、本発明の医薬組成物に含まれる化合物はカンプトテシン誘導体である化

化合物Aを部分構造として有しており、アルカリ性条件下では、化合物Aのラクトン環が開環するため、薬効低下が生じると考えられる。したがって本発明の医薬組成物のpHは5.5～9.0程度で保持されることが好ましく、pH6.0～9.0程度で保持されることがさらに好ましく、pH6.3～7.0で保持されることが特に好ましい。なお、このpHの値は、医薬組成物が水溶液である場合、その値を意味し、医薬組成物が凍結乾燥製剤である場合、水で再溶解した水溶液のpHの値を意味する。また、本明細書中、分散度は、重量平均分子量を数平均分子量で除した値を表す。

pHを上記範囲に保つ目的で、本発明の医薬組成物には、さらに、pH調整物質を配合する場合がある。pH調整物質としては、塩酸、酢酸、酢酸ナトリウム、アスコルビン酸、アスコルビン酸ナトリウム、リン酸、リン酸1水素ナトリウム、リン酸2水素ナトリウム、クエン酸およびクエン酸ナトリウム等の酸性物質、水酸化ナトリウム、トリスヒドロキシメチルアミノメタン、グリシン、塩化アンモニウムおよびトリエタノールアミン等の塩基性物質を挙げることができ、1種または2種以上を組み合わせ用いることができる。このうち、塩酸または、水酸化ナトリウムを単独で用いるのが好ましい。

本発明の医薬組成物は、カルボキシル基を有する多糖誘導体と化合物Aが1個のアミノ酸からなるスパーサーもしくはペプチド結合した2～8個のアミノ酸からなるスパーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と化合物Aが該スパーサーを介さずに結合している化合物および糖または糖アルコール、さらには必要に応じてpH調整物質が単に混合物として存在していてもよく、その他、水性製剤、凍結乾燥製剤等の自体公知の製剤の形態をとってもよい。水性製剤の例としては、医薬組成物を濾過滅菌処理した水性注射剤、一旦凍結乾燥製剤とした医薬組成物を溶解して水性注射剤とする場合などが挙げられる。凍結乾燥製剤の製造方法は特に限定されず、自体公知の方法を用いればよい。

以下に、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらにのみ限定されるべきものではない。以下実施例において、「DDS化合物A」は

、カルボキシメチルデキストランポリアルコールに（N末端）-Gly-Gly-Phe-Gly-（C末端）のアミノ酸配列で表されるスパーサーを介して化合物Aが結合した化合物を意味する。

発明を実施するための最良の形態

【実施例1】 糖を含むDDS化合物A凍結乾燥製剤中のDDS化合物A分子量の変化

DDS化合物A 10mg/mlの水溶液（A）、2重量%濃度のマルトースー水和物を含むDDS化合物A 10mg/ml溶液（B）および10重量%濃度のマルトースー水和物を含むDDS化合物A 10mg/ml溶液（C）をそれぞれ凍結乾燥し、40℃で一定期間保存後、DDS化合物Aの重量平均分子量をGPC-LALLS法により測定した。

この結果、糖を加えることにより、DDS化合物Aの分子量変化が抑制されることが明らかとなった。

表1 DDS化合物A凍結乾燥状態の分子量変化

凍結乾燥品 保存条件	A (賦形剤無添 加)	B (マルトース2 重量%)	C (マルトース1 0重量%)
開始時	308×10^3	275×10^3	293×10^3
40℃, 9日	536×10^3 174%	N. P.	N. P.
40℃, 3週間	N. P.	328×10^3 119%	318×10^3 109%

上段： 重量平均分子量

下段： 対開始時%

N. P. : 実施せず

【実施例2】 糖または糖アルコールを含むDDS化合物A凍結乾燥製剤中のD

DDS化合物A分子量の変化

3重量%濃度のマルトース一水和物（A）、マンニトール（B）、乳糖（C）をそれぞれ含むDDS化合物A 10 mg/ml 溶液をそれぞれ凍結乾燥し、40℃で一定期間保存後、GPC-LALLS法により、DDS化合物Aの重量平均分子量を測定した。

この結果、糖または糖アルコールを加えることにより、DDS化合物Aの分子量変化が抑制されることが明らかとなった。また、マルトースによる抑制効果がいっしょに高いことが明らかになった。

表2 DDS化合物A凍結乾燥状態の分子量変化

凍結乾燥品 保存条件	A (マルトース)	B (マンニトール)	C (乳糖)
開始時	324×10^3	333×10^3	330×10^3
40℃, 2週間	353×10^3 109%	1050×10^3 315%	411×10^3 125%

上段： 重量平均分子量

下段： 対開始時%

【実施例3】マルトース配合量の分子量変化抑制効果への影響

マルトース一水和物を1, 3, 10, 30 mg/mlの濃度でそれぞれ含むDDS化合物A 10 mg/ml 溶液を凍結乾燥し、40℃で一定期間保存後、DDS化合物Aの重量平均分子量をGPC-LALLS法により測定した。

この結果、DDS化合物A濃度10 mg/mlに対し、マルトース濃度が30 mg/ml以上の場合、すなわちDDS化合物A量の3倍以上マルトースが配合された場合、分子量変化の抑制効果が顕著であることが明らかとなった。また、10倍のマルトースを配合した場合も、同様の抑制効果が観察された。

表3. マルトース配合量の分子量変化抑制効果への影響

凍結乾燥品 保存条件	マルトース濃度			
	1mg/ml	3mg/ml	10mg/ml	30mg/ml
開始時	320×10^3	327×10^3	342×10^3	324×10^3
40℃, 2週間	1110×10^3 347%	536×10^3 164%	441×10^3 129%	353×10^3 109%
40℃, 1ヶ月	N. P.	N. P.	N. P.	372×10^3 115%

上段： 重量平均分子量

下段： 対開始時%

N. P. : 実施せず

[実施例4] マルトース配合量の凍結乾燥品外観におよぼす影響

マルトース一水和物を30mg/mlあるいは33mg/mlの濃度で含むD
DS化合物A10mg/ml溶液を凍結乾燥し、凍結乾燥品の外観を確認した。

この結果、マルトース濃度が30mg/mlの場合8.4%の鱗片状の外観が異なる凍結乾燥品が発生したが、一方、33mg/ml濃度では、鱗片状凍結乾燥品はほとんど発生しなかった。すなわち、マルトース一水和物添加量は、DD
S化合物A重量の3.3倍以上が特に好ましい。

表4. 凍結乾燥品外観検査結果

凍結乾燥品 外観	マルトース濃度	
	30mg/ml	33mg/ml
通常外観品	91.5%	99.2%
鱗片状外観品	8.4%	0.6%
その他	0.1%	0.2%

[実施例5] DDS化合物Aの分子量変化のpH依存性

DDS化合物A 10 mg/mlの水溶液に、マルトース一水和物を30 mg/ml濃度になるように加え、塩酸または水酸化ナトリウムにてpHを5.3~8.5に調整した。これらを凍結乾燥し、40℃で一定期間保存後、GPC-LALLS法により、DDS化合物Aの重量平均分子量および分散度の変化を測定した。

この結果、pH 6.3および7.0では分子量変化および分散度の変化が小さくもっとも安定であった。また、pH 7.2および8.5では、分子量は増加するものの、分散度の変化は少なかった。pH 5.3では、分子量および分散度がともに大きく変化した。

すなわち、水溶液状態のpHは、5.5以上に調整するのが好ましく、6.0~9.0の範囲に調整するのがより好ましく、6.3~7.0の範囲に調整するのが特に好ましい。

表5. pHの分子量変化への影響

凍結乾燥品 保存条件	pH				
	5.3	6.3	7.0	7.2	8.5
開始時	361×10 ³	363×10 ³	360×10 ³	348×10 ³	349×10 ³
40℃, 1ヶ月	333×10 ³ 92%	341×10 ³ 94%	365×10 ³ 101%	457×10 ³ 131%	414×10 ³ 119%

上段： 重量平均分子量

下段： 対開始時%

表 6. pHの分散度変化への影響

凍結乾燥品 保存条件	pH				
	5.3	6.3	7.0	7.2	8.5
開始時	1.4	1.4	1.4	1.5	1.5
40℃, 1ヶ月	2.4	1.6	1.6	1.7	1.7

分散度：重量平均分子量を数平均分子量で除した値。

産業上の利用可能性

以上のように、本発明の医薬組成物は、保存安定性に優れた抗腫瘍剤の凍結乾燥製剤として用いることができる。

請求の範囲

1. カルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) - 1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシー-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) - ジオンが1個のアミノ酸からなるスパーサーもしくはペプチド結合した2~8個のアミノ酸からなるスパーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) - 1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシー-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) - ジオンが該スパーサーを介さずに結合している化合物および下記の群より選ばれる1種または2種以上の糖もしくは糖アルコールを含有する医薬組成物。

マルトース、
グルコース、
ラクトース、
トレハロース、
サッカロース、
マンニトール、
イノシトール、
ガラクトース、
リボース、
キシロース、
マンノース、
シュークロース、
セルビオース、
ラフィノースおよび
マルトトリオース。

2. カルボキシル基を有する多糖誘導体と(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[d,e]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13(9H, 15H)-ジオンが1個のアミノ酸からなるスペーサーもしくはペプチド結合した2~8個のアミノ酸からなるスペーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と(1S, 9S)-1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ[d,e]ピラノ[3', 4': 6, 7]インドリジノ[1, 2-b]キノリン-10, 13(9H, 15H)-ジオンが該スペーサーを介さずに結合している化合物、下記の群より選ばれる1種または2種以上の糖もしくは糖アルコール、およびpH調整物質を含有する医薬組成物。

マルトース、
 グルコース、
 ラクトース、
 トレハロース、
 サッカロース、
 マンニトール、
 イノシトール、
 ガラクトース、
 リボース、
 キシロース、
 マンノース、
 シュークロース、
 セルビオース、
 ラフィノースおよび
 マルトトリオース。

3. カルボキシル基を有する多糖誘導体がカルボキシC₁₋₄アルキルデキスト

ランポリアルコールである請求項 1 または 2 に記載の医薬組成物。

4. カルボキシル基を有する多糖誘導体がカルボキシメチルデキストランポリアルコールである請求項 1 または 2 に記載の医薬組成物。

5. カルボキシメチルデキストランポリアルコールの重量平均分子量が 50,000~500,000 の範囲である請求項 4 に記載の医薬組成物。

6. カルボキシメチルデキストランポリアルコールのカルボキシメチル化度が、0.2~0.5 である請求項 4 または 5 に記載の医薬組成物。

7. スペーサーが (N 末端) -Gly-Gly-Phe-Gly- (C 末端) のアミノ酸配列で表されるアミノ酸である請求項 1~6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

8. (1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンの導入量がカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンが 1 個のアミノ酸からなるスペーサーもしくはペプチド結合した 2~8 個のアミノ酸からなるスペーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンが該スペーサーを介さずに結合している化合物の重量に対し 2~10 重量%である請求項 1~7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

9. 糖もしくは糖アルコールがマルトースである請求項 1~8 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

10. マルトースの配合量がマルトース一水和物重量としてカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-

2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンが1個のアミノ酸からなるスパーサーもしくはペプチド結合した2~8個のアミノ酸からなるスパーサーを介して結合している化合物またはカルボキシル基を有する多糖誘導体と (1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンが該スパーサーを介さずに結合している化合物重量の3倍以上である請求項9に記載の医薬組成物。

11. pH調整物質が塩酸または水酸化ナトリウムである請求項2~10のいずれか1項に記載の医薬組成物。

12. pHが約5.5~9.0である請求項1~11のいずれか1項に記載の医薬組成物。

13. pHが6.0~9.0である請求項1~11のいずれか1項に記載の医薬組成物。

14. pHが6.3~7.0である請求項1~11のいずれか1項に記載の医薬組成物。

15. カルボキシメチルデキストランポリアルコールと (1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンが (N末端) -Gly-Gly-Phe-Gly- (C末端) のアミノ酸配列で表されるアミノ酸からなるスパーサーを介して結合している化合物およびマルトースを含有する医薬組成物であって、該化合物のカルボキシメチルデキストランポリアルコールの分子量が50,000~500,000の範囲であり、カルボキシメチル化度が0.2~0.5であり、(1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリ

ン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンの導入量が該化合物の重量に対し2~10重量%であり、マルトースの配合量がマルトース一水和物重量として、該化合物重量の3倍以上であり、pHが6.0~9.0である医薬組成物。

16. カルボキシメチルデキストランポリアルコールと(1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンが(N末端) -Gly-Gly-Phe-Gly- (C末端) のアミノ酸配列で表されるアミノ酸からなるスペーサーを介して結合している化合物、マルトース、およびpH調整物質を含有する医薬組成物であって、該化合物のカルボキシメチルデキストランポリアルコールの分子量が50,000~500,000の範囲であり、カルボキシメチル化度が0.2~0.5であり、(1S, 9S) -1-アミノ-9-エチル-5-フルオロ-2, 3-ジヒドロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-1H, 12H-ベンゾ [de] ピラノ [3', 4' : 6, 7] インドリジノ [1, 2-b] キノリン-10, 13 (9H, 15H) -ジオンの導入量が該化合物の重量に対し2~10重量%であり、マルトースの配合量がマルトース一水和物重量として、該化合物重量の3倍以上であり、pH調整物質が塩酸または水酸化ナトリウムであり、pHが6.0~9.0である医薬組成物。

17. 請求項1~16のいずれか1項に記載の医薬組成物を含有する凍結乾燥製剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/06020

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
Int. Cl. ⁷ A61K47/48, 47/36, 47/26, 47/10, 9/19, 31/4745, C07D491/22		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
Int. Cl. ⁷ A61K47/48, 47/36, 47/26, 47/10, 9/19, 31/4745, C07D491/22		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Jitsuyo Shinan Koho 1926-1992 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1996 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1992 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2001		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 97/46260 A1 (Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.), 11 December, 1997 (11.12.97), Claims; pages 4, 17 & EP 916348 A	1-17
Y	EP 957484 A1 (Nippon Shinyaku Company, Limited), 12 August, 1998 (12.08.98), Full text & JP 9-136836 A	1-17
Y	WO 97/49135 A1 (Sumitomo Pharmaceuticals Company, Limited), 04 December, 1997 (04.12.97), Full text & JP 10-212241 A	1-7
Y	WO 00/18401 A1 (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 06 April, 2000 (06.04.00), Full text & JP 2000-169372 A	1-7
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		
"E" earlier document but published on or after the international filing date		
"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
26 September, 2001 (26.09.01)	09 October, 2001 (09.10.01)	
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/06020

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 97/23782 A1 (Nycomed Imaging A/S), 21 August, 1997 (21.08.97), Full text & JP 2000-506132 A	1-7

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 97/45135 A1 (SUMITOMO PHARMACEUTICALS COMPANY, LIMITED) 4. 12月. 1997 (04. 12. 97) 全文 & JP 10-212241 A	1-7
Y	WO 00/18401 A1 (Takeda Chemical Industries, Ltd.) 6. 4月. 2000 (06. 04. 00) 全文 & JP 2000-169372 A	1-7
Y	WO 97/29782 A1 (NYCOMED IMAGING A/S) 21. 8月. 1997 (21. 08. 97) 全文 & JP 2000-506122 A	1-7

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO1/06020

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K47/48, 47/36, 47/26, 47/10, 9/19,
31/4745, C07D491/22

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K47/48, 47/36, 47/26, 47/10, 9/19,
31/4745, C07D491/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1992
日本国公開実用新案公報 1971-1992
日本国登録実用新案公報 1994-1996
日本国実用新案登録公報 1996-2001

国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 97/46260 A1 (DAIICHI PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 11. 12月, 1997 (11. 12. 97) (特許請求の範囲, 第4頁, 第17頁) & EP 916348 A	1-17
Y	EP 857484 A1 (NIPPON SHINYAKU COMPANY, LIMITED) 12. 8月, 1998 (12. 08. 98) 全文 & JP 9-136836 A	1-17

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に拠る発明を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に及ぼす文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 09. 01

国際調査報告の発送日

09.10.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

電話番号 03-3581-1101 内線 6247

4C 9841